



## Associação entre doses de nitrogênio e inoculação das sementes com bactéria diazotrófica no Milho

Lana, Regina Maria Quintão<sup>1</sup>; Isabel Dayane de Sousa Queiroz<sup>1</sup>; José Luiz Rodrigues Torres<sup>2,3</sup>; Adão de Siqueira Ferreira<sup>1</sup>; Marcos Vieira de Faria<sup>1</sup>; Thiago Prudente Siqueira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Uberlândia, Departamento de Solos e Nutrição de Plantas do Instituto de Ciências Agrárias, Campus Umuarama, Bloco 4C Av. Amazonas s/n Uberlândia, CEP 38400-734, Brasil; <sup>2</sup>Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Triângulo Mineiro Campus Uberaba. Rua João Batista Ribeiro, 400, Uberaba, CEP 38064-790, Brasil; <sup>3</sup>E-mail: jlrtorres@iftm.edu.br

Lana, Regina Maria Quintão; Isabel Dayane de Sousa Queiroz; José Luiz Rodrigues Torres; Adão de Siqueira Ferreira; Marcos Vieira de Faria; Thiago Prudente Siqueira (2017) Associação entre doses de nitrogênio e inoculação das sementes com bactéria diazotrófica no Milho. Rev. Fac. Agron. Vol 116 (2): 171-178.

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho e mais de 50% desta produção está concentrada no Cerrado. Esta produção está relacionada ao fornecimento adequado de nutrientes, especialmente o nitrogênio (N), que é fornecido via adubação mineral, contudo a inoculação das sementes com bactérias diazotróficas tem complementado as necessidades da cultura. Neste estudo avaliou-se o desenvolvimento e a produção da cultura do milho cultivado com diferentes doses de N, na presença e ausência de *Azospirillum*. Com delineamento de blocos casualizados em esquema fatorial (5 x 2), sendo cinco doses de N (0, 50, 100, 150 e 200 kg ha<sup>-1</sup>), duas formas de inoculação da bactéria (1 – Com, 2 – Sem), com seis repetições. Mediu-se a altura da planta, inserção, comprimento e diâmetro da espiga, massa de mil grãos, percentual de grãos ardidos e produtividade. A inoculação das sementes de milho com a bactéria *Azospirillum brasilense* melhora a eficiência da planta na absorção do nitrogênio disponível. O diâmetro de espiga e a produtividade aumentaram linearmente com as doses de nitrogênio na presença da bactéria. A inoculação da semente com a bactéria não substitui o uso de fertilizantes nitrogenados, mas melhora a resposta da planta à adubação, especialmente em doses elevadas.

**Palavras-chave:** Cerrado, fertilidade, morfologia, inoculação, produtividade.

Lana, Regina Maria Quintão; Isabel Dayane de Sousa Queiroz; José Luiz Rodrigues Torres; Adão de Siqueira Ferreira; Marcos Vieira de Faria; Thiago Prudente Siqueira (2017) Association between nitrogen and seed inoculation with bacteria diazotrófica in Maize. Rev. Fac. Agron. Vol 116 (2): 171-178.

Brazil is the world's third largest producer of corn and over 50% of this production is concentrated in the Cerrado. This production is related to adequate supply of nutrients, especially nitrogen (N), which is provided via mineral fertilization, however the inoculation of seeds with bacteria has complemented the needs of culture. This study evaluated the development and production of cultivated maize with different doses of N in the presence and absence of *Azospirillum*. With a randomized block design in a factorial scheme (5 x 2), with five N rates (0, 50, 100, 150 and 200 kg ha<sup>-1</sup>), two forms of inoculation of bacteria (1 - with, 2 - Without) with six replications. Measured the height of the plant, insertion length and diameter of the ear, thousand grain weight, percentage of crop burned and productivity. The inoculation of corn seeds with the bacterium *Azospirillum brasilense* improves the efficiency of the plant in the uptake of nitrogen available. The diameter of the cob and productivity increased linearly with the dose of nitrogen in the presence of the bacteria. The inoculation of seed with the bacterium does not replace the use of nitrogenous fertilizers, but improves the response of the plant to nitrogen, especially in high doses.

**Key words:** Cerrado, fertility, morphology, inoculation, productivity.

Recibido: 28/03/2015

Aceptado: 28/11/2017

Disponibile on line: 01/04/2018

ISSN 0041-8676 - ISSN (on line) 1669-9513, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP, Argentina

## INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho (*Zea mays* L.), com área plantada de 16 milhões de hectares e produção aproximada de 81 milhões de toneladas na safra 2012/2013, valor este que representa um incremento de 4,5% em relação à safra anterior (Emygdio et al., 2013). A maior parte desta produção está localizada no Cerrado, que responde por mais de 50% da produção nacional de grãos. Contudo a expectativa de produção para a próxima safra (2013/2014) é de 75,4 milhões de toneladas de milho, o que representa uma redução de 7,2% em relação à safra anterior, que se deve, principalmente, à redução de área plantada e também do rendimento da cultura, em função da condição climática e da menor utilização dos pacotes tecnológicos de produção (Conab, 2014).

A produtividade de milho em muitas regiões brasileiras está muito abaixo do potencial genético dos híbridos de alta tecnologia, nas regiões centro-oeste, sul e sudeste o valor médio é de 5,7 t ha<sup>-1</sup> de grãos. Contudo, nestas mesmas regiões, utilizando a tecnologia disponível para a cultura, tem-se atingido valores variando entre 8 a 14,0 t ha<sup>-1</sup> (Cruz et al., 2011). Este baixo rendimento tem sido atribuído à escolha de híbridos inadequados à região produtora, ao baixo capital investido pelos produtores e à má utilização da tecnologia de produção disponível, incluindo escolha do espaçamento e densidade de plantas, época de plantio e colheita, controle de pragas, doenças e plantas invasoras, além do manejo de fertilidade do solo, por meio de correção de acidez e adubação de plantio e cobertura (Gomes et al., 2007).

A fertilidade do solo está entre as principais causas da redução da produtividade. Dentre os elementos essenciais, o nitrogênio (N) é o nutriente requerido em maior quantidade pela cultura do milho, sendo necessários 17 kg ha<sup>-1</sup> de N para produção de 1 tonelada de grãos, considerando uma produtividade de 12 t ha<sup>-1</sup>, a deficiência deste elemento compromete o desenvolvimento da planta e a produção final de grãos (Cantarella, 2007).

A principal alternativa que vem sendo utilizada para fornecer este nutriente essencial a cultura do milho é à adubação mineral nitrogenada, contudo a fixação biológica de N (FBN) realizada pelas bactérias diazotróficas do gênero *Azospirillum* em associação com a planta, tem-se mostrado como uma opção complementar para fornecimento de N para o milho (Ferreira et al., 2013), arroz (Puente et al., 2013) e a cana-de-açúcar (Pereira et al., 2013).

Além do N fixado, outras vantagens são observadas com relação à inoculação da bactéria, dentre elas, tem sido relatado em vários trabalhos que *Azospirillum* produz fito-hormônios que estimulam o crescimento das raízes de diversas espécies de plantas, que podem implicar no incremento da absorção da água e minerais, aumentar a tolerância a estresses como salinidade e seca, causar maior resistência a agentes patogênicos, resultando em uma planta mais vigorosa e produtiva (Correa et al., 2008, Sivasakthivelan & Saranraj, 2013). Este N fixado via bactérias e disponibilizado para a cultura tem promovido o crescimento do sistema radicular, o que aumenta a absorção de água e nutrientes pelas raízes, melhorando a nutrição da

planta e aumentando sua produção, além disso, o uso destas bactérias pode solubilizar fosfato, atuar como agente de controle biológico, melhorar os parâmetros fotossintéticos e promover incremento de biomassa vegetal.

Avaliando a fertilização nitrogenada em feijoeiro cultivado em sucessão ao milho consorciado com *Urochloa ruziziensis*, na ausência e presença de *Azospirillum brasilense*, Sabundjian et al. (2013) verificaram que o milho inoculado produziu em média 25% mais de cobertura vegetal do que o tratamento sem inoculação.

Este resultado corrobora com aqueles constatados Reis Júnior et al. (2008), que também encontrou maior massa seca de milho em função da inoculação com *Azospirillum amazonense*. A inoculação de *Azospirillum* na cultura do milho, associada à aplicação de 24 kg ha<sup>-1</sup> de N na semeadura promoveu produtividade de 3,4 t ha<sup>-1</sup>, 24% maior que o controle sem inoculação. Nestas condições, a aplicação adicional de 30 kg ha<sup>-1</sup> de N na fase de florescimento promoveu rendimento de até 7,0 t ha<sup>-1</sup> (Hungria et al., 2010).

A associação entre *Azospirillum* e a cultura do milho apresenta grande potencial de redução da adubação nitrogenada, de melhoria das características fisiológicas e aumento na produtividade da cultura, que devido a sua importância econômica, contudo, mais estudos precisam ser realizados com o intuito de otimizar os resultados desta associação. Neste contexto, neste estudo objetivou-se avaliar o desenvolvimento e a produção de plantas de milho cultivadas em diferentes doses de nitrogênio e na presença e ausência de *Azospirillum brasilense*.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado na Fazenda Experimental Capim Branco, entre as coordenadas geográficas 18°55'23" S e 48°17'19" W, numa altitude de 872 m, pertencente à Universidade Federal de Uberlândia (UFU), no município de Uberlândia, MG, durante a safra 2011/2012.

O solo da área experimental foi classificado como Latossolo Vermelho (Embrapa, 2011), textura argilosa, apresentando na camada arável (0 – 0,20 m), 580 g kg<sup>-1</sup> de argila, pH H<sub>2</sub>O = 5,5, P = 2,9 mg dm<sup>-3</sup>, K = 101,0 mg dm<sup>-3</sup>, S = 12,0 mg dm<sup>-3</sup>, C a = 1,0 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, MG = 0,5 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, Al = 0,0 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, B = 0,11 mg dm<sup>-3</sup>, Cu = 2,6 mg dm<sup>-3</sup>, Fe = 9,0 mg dm<sup>-3</sup>, Mn = 0,7 mg dm<sup>-3</sup>, Zn = 0,3 mg dm<sup>-3</sup>, C orgânico = 21 g kg<sup>-1</sup>, CTC a pH 7,0 = 4,86 cmol<sub>c</sub> cm<sup>-3</sup> e 36% saturação por bases.

O clima da região é classificado como Aw, tropical com estação seca no inverno, segundo a classificação de Köppen. Na região ocorrem médias anuais de precipitação na ordem de 1500 mm.

O delineamento experimental utilizado foi de blocos casualizados em esquema fatorial (5 x 2), sendo cinco doses de Nitrogênio (N) (0, 50, 100, 150 e 200 kg ha<sup>-1</sup>), duas formas de inoculação da bactéria (1 – Com inoculação de *Azospirillum brasilense*, 2 – Sem inoculação), com seis repetições.

O híbrido de milho utilizado foi DKB 390 VTPRO e o inoculante foi o produto comercial Masterfix Gramínea® (cepas – AbV5 e AbV6), com concentração mínima de

$2 \times 10^8$  células  $\text{mL}^{-1}$ . Cada parcela consistiu de 10 linhas com 6 metros de comprimento, espaçadas 0,5 m e a parcela útil para a colheita foi constituída das 4 linhas centrais, desconsiderando 1 metro de cada extremidade.

A área foi preparada para o plantio com uma gradagem pesada, seguida da aplicação de  $1,0 \text{ t ha}^{-1}$  de gesso agrícola incorporado com grade pesada. Em seguida utilizou-se grade niveladora e sulcador para abertura dos sulcos de plantio. A semeadura foi realizada manualmente em 14 de dezembro de 2011, utilizando-se 3,5 sementes por metro linear, para obtenção do estande de 70.000 sementes por hectare.

Na semeadura, aplicou-se  $18 \text{ kg ha}^{-1}$  de Mg e  $24 \text{ kg ha}^{-1}$  de S na forma de sulfato de magnésio,  $120 \text{ kg ha}^{-1}$  de  $\text{P}_2\text{O}_5$  na forma de superfosfato triplo,  $50 \text{ kg ha}^{-1}$  de K na forma de cloreto de potássio e  $50 \text{ kg ha}^{-1}$  de N na forma de ureia, exceto nos tratamentos com dose zero de N. A adubação de cobertura, realizada no estádio de desenvolvimento V4, consistiu da aplicação de  $100 \text{ kg ha}^{-1}$  de K, na forma de cloreto de potássio e a dose de N necessária para completar a dose de cada tratamento. No estádio V8, foi realizada adubação foliar com  $40 \text{ g ha}^{-1}$  de molibdênio,  $4,0 \text{ g ha}^{-1}$  de cobalto,  $300 \text{ g ha}^{-1}$  de manganês e  $147 \text{ g ha}^{-1}$  de enxofre, além de  $400 \text{ g ha}^{-1}$  de boro e  $2 \text{ kg ha}^{-1}$  de zinco via solo.

No estádio V7 foi realizado o controle de plantas daninhas, utilizando-se pulverizador costal com volume de calda de  $350 \text{ L ha}^{-1}$ . Os herbicidas utilizados foram: atrazina ( $400 \text{ g L}^{-1}$ ), na dose de  $4,0 \text{ L ha}^{-1}$  e tembotriona ( $420 \text{ g L}^{-1}$ ) na dose de  $0,35 \text{ L ha}^{-1}$ .

No estádio V8 foi realizada a aplicação foliar de molibdênio e Cobalto (Nectar-  $22,5 \text{ g L}^{-1}$  de Co e  $225 \text{ g L}^{-1}$  de Mo, densidade =  $1,58 \text{ g L}^{-1}$ ) na dose de  $40,0 \text{ g ha}^{-1}$  de molibdênio e  $4,0 \text{ g ha}^{-1}$  cobalto, manganês e enxofre (Polefétil –  $67,0 \text{ g L}^{-1}$  de S e  $135 \text{ g L}^{-1}$  de Mn, densidade =  $1,35 \text{ g L}^{-1}$ ) na dose de  $300 \text{ g ha}^{-1}$  de manganês e  $147,4 \text{ g ha}^{-1}$  de enxofre. E os micronutrientes boro (Nyon solo Boro -  $130 \text{ g L}^{-1}$ , Densidade =  $2,0 \text{ g L}^{-1}$ ) na dose de  $400 \text{ g ha}^{-1}$  de boro e Zinco (Nyon Zinco -  $1.000 \text{ g L}^{-1}$ , densidade =  $1,3 \text{ g L}^{-1}$ ) na dose de  $2 \text{ kg ha}^{-1}$  de zinco, foram aplicados via solo. Analisou-se a altura de planta da superfície do solo até a inserção da última folha completamente expandida, utilizando-se régua graduada em cm. O diâmetro de colmo foi medido no segundo internódio com um

paquímetro digital graduado em mm no estádio de desenvolvimento R3. Realizou-se a análise química foliar no estádio V8, quando ocorre a definição do número de fileiras, utilizando a última folha completamente desenvolvida, no estádio R1 e no estádio R3 (folha da espiga na fase reprodutiva), conforme metodologia proposta pela Embrapa (2009). Mediu-se também o a inserção, comprimento e diâmetro de espiga, peso de mil grãos, porcentagem de grãos ardidos e a produtividade de grãos. A colheita foi realizada manualmente em maio de 2012 e a umidade dos grãos foi corrigida para 13%.

Os resultados foram submetidos à análise estatística aplicando-se o teste de Tukey a 0,05 de significância, para variável inoculação e a análise de regressão para a variável dose por meio do software Sisvar versão 4.0 e o Sigmaplot versão 2010.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Analizando os valores obtidos para os parâmetros altura da planta e inserção da espiga, observou-se que os mesmos não foram afetados significativamente ( $p > 0,05$ ) pelas doses ou inoculação da semente com a bactéria *Azospirillum brasilense* e nem houve interação entre eles, entretanto, o mesmo não ocorreu para o diâmetro do caule, que foi maior ( $p < 0,05$ ) nas doses de 150 e  $200 \text{ Kg ha}^{-1}$  de N, com ou sem inoculação da bactéria (Tabela 1).

O N é um dos nutrientes mais absorvidos e importantes para a cultura do milho, quando aplicado na dose recomendada, contudo, quando em doses elevadas, nem sempre promove o maior ou mais rápido crescimento das plantas, entretanto, aumenta a folhagem e o peso da planta, por isso mesmo tende a aumentar o diâmetro do caule para dar sustentação a planta, durante sua fase vegetativa (Sabundjian et al., 2013), além disso, incrementa o teor de matéria seca, que é importante durante todo o ciclo, especialmente nas fases de floração e enchimento de grãos, além de favorecer os microorganismos do solo responsáveis pela decomposição de matéria orgânica.

O parâmetro altura das plantas tem apresentado resultados variáveis em outros estudos, conforme destacado por Lana et al. (2012), que não observaram

Tabela 1. Altura de planta (AP), inserção da espiga (IE) e diâmetro de colmo (DC) em função das doses de nitrogênio e na presença (Com) ou ausência (Sem) da inoculação da bactéria (IB) *Azospirillum brasilense* no milho, na safra 2011/2012, em Uberlândia, Brasil. \* = Significativo ( $p < 0,05$ ), Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem estatisticamente entre si (Tukey,  $p < 0,05$ ).

Parâmetro	IB	Dose de N					Equação polinomial	R <sup>2</sup>
		.....Kg ha <sup>-1</sup> .....						
		0	50	100	150	200		
AP	Com	2,1aA	2,1aA	2,2aA	2,1aA	2,1aA	y=-0,000006x <sup>2</sup> +0,0012x+2,0 y = 0,0005x+2,0727	78,2
	Sem	2,1aA	2,1aA	2,2aA	2,1aA	2,2aA		81,1
IE	Com	1,2aA	1,2aA	1,2aA	1,2aA	1,2aA	y=-0,000004x <sup>2</sup> +0,0007x+1,2 y=-0,000001x <sup>2</sup> +0,0004+1,2	94,9
	Sem	1,2aA	1,2aA	1,2aA	1,2aA	1,2aA		60,3
DC	Com	21,2bA	21,4bA	21,8bA	23,2aA	22,8aA	Y = 0,0102x+21,06 <sup>*</sup> Y = 0,0069x+21,13 <sup>*</sup>	82,8
	Sem	21,1bA	21,5bA	21,6bA	22,5aA	22,3aA		83,2
CV(%)				14,4				

diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) para o mesmo parâmetro em função da inoculação com *Azospirillum* ou adubação nitrogenada, enquanto que resultados divergentes aos encontrados neste estudo foram evidenciados por Sabundjian et al. (2013), que relataram ter ocorrido incremento da altura em função das doses de nitrogênio aplicadas na presença da bactéria, comprovando a existência de uma interação sinérgica entre N e *Azospirillum*.

Em estudo com milho em casa de vegetação, Ramos et al. (2010), observaram que aos 30 dias após a germinação, a altura de planta também foi maior quando o N foi aplicado na presença de *Azospirillum lipoferum*, em relação à aplicação de N na ausência da bactéria. Oliveira et al. (2009) avaliando milho em diferentes doses de nitrogênio e fósforo observaram resposta linear crescente de altura de planta em função do aumento nas doses de nitrogênio.

Para o diâmetro de caule, Oliveira et al. (2009) evidenciaram resultados semelhantes aos obtidos neste estudo, pois observaram incremento linear significativo em função do aumento nas doses de N e fósforo (P), tanto na ausência quanto na presença da bactéria. Dartora et al. (2013) observaram incremento de 15% no diâmetro de caule nos tratamentos com inoculação *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* em relação ao tratamento testemunha na cultura do milho. Contudo, Dotto et al. (2010) verificaram resultados divergentes avaliando o efeito de *Herbaspirillum seropedicae* e doses de N na cultura do milho, pois não encontraram efeito significativo de dose ou inoculação sobre o diâmetro de colmo.

A altura de inserção da espiga não foi influenciada pelas doses de N, resultados estes divergentes aos observados por Goês et al. (2013), que encontraram resposta quadrática da altura de inserção da espiga em função das doses de N aplicados, tanto na forma de ureia quanto de sulfato de amônio aplicadas ao milho em cobertura de inverno.

Os valores observados para massa fresca (MF) e seca (MS) foram significativamente superiores ( $p < 0,05$ ) nas doses de 100, 150 e 200 kg ha<sup>-1</sup>, na presença ou na ausência de *Azospirillum* (Tabela 2). Mesmo assim, o incremento de MF foi de 1,08 g kg<sup>-1</sup> de N na presença da bactéria, valor este superior quando comparado aos

0,67 g kg<sup>-1</sup> de N da área na ausência do *Azospirillum*. Esta diferença se deve, provavelmente, à capacidade destas bactérias de sintetizar fito-hormônios que, disponibilizados para as plantas, estimulam o crescimento das raízes finas das plantas, aumentando assim sua capacidade de absorção de águas e nutrientes (Sivasakthivelan & Saranraj, 2013).

Quanto à MS da planta, houve incremento de 178 mg kg<sup>-1</sup> N na presença do *Azospirillum*. (Tabela 2). Esta resposta pode estar relacionada à capacidade da bactéria em disponibilizar para a planta parte do N<sub>2</sub> fixado. Visto que o N é demandado em quantidade elevada pela cultura do milho, uma vez que é constituinte de aminoácidos, proteínas, clorofila, e sua maior disponibilização para a cultura pode promover incrementos no acúmulo de carboidratos pela planta. Segundo Sangoi et al. (2005), esta MS define a quantidade de carboidratos que será translocada para os grãos, alterando o seu tamanho dos grãos e a produção da planta.

Analisando os teores de micronutrientes foliares no estágio V8 da cultura do milho (Tabela 3) observou-se que para N, P, Mg e S, não houve interação entre as diferentes doses de N na presença ou ausência da bactéria, porém o mesmo não ocorreu para K, contudo, em todas as doses avaliadas, o teor de N foliar ficou dentro da faixa de suficiência considerada adequada para a cultura do milho (28 a 35 g kg<sup>-1</sup> de N), destacada por Malavolta et al. (1997). Dotto et al. (2010) utilizando a bactéria Diaz trófica *Herbaspirillum seropedicae*, também não encontraram diferença significativa no teor de N foliar em função das doses de N ou da inoculação. Com relação ao K, houve interação entre as doses de N com e sem o inoculante, pois na dose de 150 e 200 kg ha<sup>-1</sup> de N, respectivamente, o valor observado de K foi significativamente superior ( $p < 0,05$ ). O mesmo ocorreu para a Ca, quando comparado à média dos tratamentos, independente da dose de N utilizada.

A absorção de K é máxima no período de desenvolvimento vegetativo da planta, período este que ocorre elevada taxa de acúmulo nos primeiros 30 a 40 dias após o plantio. Para o N e o P, o milho apresenta dois períodos de máxima absorção durante as fases de desenvolvimento vegetativo e reprodutivo ou formação da espiga, com menores taxas de absorção no período

Tabela 2. Massa fresca (MF) e seca (MS) de plantas (folhas + colmos) de milho em função das doses de nitrogênio e na presença (Com) ou ausência (Sem) da inoculação da bactéria (IB) *Azospirillum brasilense* no milho, na safra 2011/2012, em Uberlândia, Brasil. \* = Significativo ( $p < 0,05$ ), Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem estatisticamente entre si (Tukey,  $p < 0,05$ ).

IB	Dose de N					Equação Polinomial	R <sup>2</sup>
	0	50	100	150	200		
			kg ha <sup>-1</sup>				
			MF				
			G				%
Com	1028,7bA	979,3dA	1165,9aA	1112,1cA	1130,7bA	Y= 0,6735x+1016,0*	47,8
Sem	994,0eA	1029,2dA	1182,9bA	1177,5cA	1190,2aA	Y= 1,0812x+1006,6*	80,8
CV%			16,7				
			MS				
Com	205,6c	195,3d	223,3b	231,6a	226,1b	y= 0,1549x+200,9	64,0
Sem	204,2d	196,8e	232,2b	218,4c	238,0a	y= 0,1784x+200,10*	63,9
CV%			10,1				

Tabela 3. Teores de macronutrientes foliares no estágio V8 da cultura do milho em função das doses de nitrogênio e na presença (Com) ou ausência (Sem) da inoculação da bactéria (IB) *Azospirillum brasilense* no milho, na safra 2011/2012, Uberlândia, Brasil. \* = Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si (Tukey,  $p < 0,05$ ).

Nutriente	IB	Dose de N					Média	CV %
		.....kg ha <sup>-1</sup> .....						
		0	50	100	150	200		
		.....g kg <sup>-1</sup> .....						
N	Com	31,2 a	31,8 a	33,5 a	34,8 a	35,2 a	33,3 a	6,20
	Sem	31,7 a	32,4 a	34,4 a	34,2 a	33,8 a	33,3 a	
K	Com	33,4 b	35,8 b	36,8 b	39,1 a	33,8 b	35,8 a	9,76
	Sem	36,2 b	32,5 b	34,3 b	36,9 b	38,8 a	35,4 a	
P	Com	2,0 a	2,2 a	2,1 a	2,1 a	2,2 a	2,1 a	18,53
	Sem	2,2 a	2,3 a	2,3 a	2,2 a	2,3 a	2,2 a	
Ca	Com	8,2 a	8,6 a	8,4 a	8,2 a	8,4 a	8,4 b	3,16
	Sem	8,4 a	8,7 a	8,5 a	8,5 a	8,7 a	8,5 a	
Mg	Com	3,7 a	3,7 a	3,3 a	2,7 a	2,7 a	3,2 a	17,93
	Sem	4,0 a	4,0	3,2	2,9 a	2,9 a	3,4 a	
S	Com	2,6 a	2,5 a	2,6 a	2,6 a	2,5 a	2,6 a	10,75
	Sem	2,5 a	2,6 a	2,6 a	2,5 a	2,5 a	2,5 a	

compreendido entre a emissão do pendão e o início da formação da espiga (Cantarella, 2007).

Estudando o efeito de *Azospirillum brasilense* no desenvolvimento de mudas de cafeeiro, Pimentel et al. (2008), encontraram maiores teores de N, P, K e Ca nas raízes das mudas inoculadas. Assim como Araújo (2008), avaliando a emergência e o desenvolvimento das plantas de milho, em função da inoculação com bactéria promotora de crescimento em planta, encontrou maior teor de N, P, K, Ca e Mg foliar no tratamento com inoculação em relação à testemunha. Ambos os autores afirmaram que estas alterações estão diretamente relacionadas à produção de hormônios de crescimento, principalmente as auxinas. As médias de comprimento e diâmetro de espiga, massa de mil grãos, % de grãos ardidos e produtividade são apresentadas na tabela 4.

O comprimento da espiga é um dos atributos que pode afetar a produtividade de grãos, com isso constitui-se em importante variável a ser analisada na cultura do milho, porém, neste estudo, este parâmetro não foi influenciado pela aplicação de doses crescentes de N, com ou sem inoculação na semente.

Resultados divergentes aos obtidos neste estudo foram obtidos por Okumura et al. (2013), pois observaram que o aumento das doses de N aplicados em cobertura influenciou positivamente este parâmetro e que o modelo que melhor se ajustou aos dados foi a equação quadrática, destacaram ainda que existe correlação direta com o vigor da planta e com o incremento da produtividade. Entretanto, Ferreira et al. (2013) observaram resultados semelhantes, pois não encontraram efeito das doses de N, com ou sem inoculação da mesma bactéria, na cultura do milho.

O diâmetro de espiga respondeu linearmente ao aumento das doses de N até 200 kg ha<sup>-1</sup>, tanto na presença quanto na ausência de *Azospirillum* (Tabela 4), pois quando houve a inoculação, o incremento do diâmetro em função da aplicação de doses crescente de N foi 23% maior, quando comparado ao observado na ausência de inoculação. Esta diferença se deve, provavelmente, à melhoria no sistema radicular gerado

pelo *Azospirillum*, aumentando a absorção de nutrientes pela planta, resultando em maior diâmetro de espiga.

Goês et al. (2013) avaliando fontes e doses de N em cobertura de inverno e Okumura et al. (2013) avaliando doses de ureia tratada com inibidor de uréase encontraram ajuste quadrático e linear, respectivamente, do diâmetro de espiga em função das doses crescentes de N na cultura do milho.

Quanto à massa de mil grãos, não houve incremento em função das doses de N, tanto na presença quanto na ausência de *Azospirillum*. Em estudo semelhante, Novakowski et al. (2011) encontraram resultados divergentes, pois avaliando a inoculação com *Azospirillum* e o efeito residual de N na cultura do milho, observam que esta massa foi inferior nos tratamentos onde houve a inoculação da bactéria, apresentando resposta quadrática pelo aumento de doses de N aplicadas na cultura do milho.

Com relação à incidência de grãos ardidos, não foram observadas diferenças entre os tratamentos utilizados (Tabela 4), no entanto, comparando-se somente as médias na dose 200 kg ha<sup>-1</sup> de N, a porcentagem de grãos ardidos foi 44% menor na presença de *Azospirillum*.

Os grãos ardidos (GA) na cultura do milho ocorrem em consequência da podridão das espigas, devido à presença dos fungos *Fusarium* sp. e *Gibberella zeae* no campo de produção, que se deve principalmente a permanência dos grãos no campo após a maturidade fisiológica até colheita. As perdas relacionadas ao ardimento dos GA são decorrentes da redução do tamanho dos grãos e da sua qualidade nutricional. Novakowski et al. (2011), avaliando o efeito residual da adubação nitrogenada e a inoculação de *Azospirillum brasilense* na cultura do milho também não encontraram efeito das doses de N sobre a porcentagem de grãos ardidos.

A produtividade apresentou resposta linear crescente em função das doses de N quando houve inoculação nas doses de 100 e 150 kg ha<sup>-1</sup> de N, que atingiu aproximadamente 12 t ha<sup>-1</sup>, que pode ser justificado

**Tabela 4.** Parâmetros avaliados (PA) de comprimento (CE) e diâmetro de espiga (DE), massa de mil grãos (MMG), porcentagem de grãos ardidos (GA) e produtividade (P) em função das doses de nitrogênio e na presença (Com) ou ausência (Sem) da inoculação da bactéria (IB) *Azospirillum brasilense* no milho, na safra 2011/2012, Uberlândia, Brasil. \* = Significativo ( $p < 0,05$ ), Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem estatisticamente entre si (Tukey,  $p < 0,05$ ).

PA	IB	Dose de N					Equação Polinomial	R <sup>2</sup> %
		0	50	100	150	200		
		kg ha <sup>-1</sup>						
		cm						
CE	Com	13,3aA	13,5aA	13,7aA	14,0aA	14,0aA	Y=0,0039x + 13,33	93,1
	Sem	13,7aA	13,5aA	14,2aA	13,8aA	14,3aA	Y=0,0028x + 13,63	41,5
CV%		15,3						
		mm						
DE	Com	51,8bA	51,6bA	52,1bA	53,0a	52,9aA	y=0,0070x + 51,59 <sup>*</sup>	79,8
	Sem	51,9bA	51,3bA	52,9aA	52,9a	53,2aA	y=0,0086x + 51,57 <sup>*</sup>	70,6
CV%		5,5						
		kg						
MMG	Com	0,36bA	0,36bA	0,38aA	0,38aA	0,38aA	y=0,0983x + 360,27 <sup>*</sup>	74,7
	Sem	0,34cA	0,36bA	0,38aA	0,38aA	0,39aA	y=0,2031x + 351,84 <sup>*</sup>	89,4
CV%		6,1						
		%						
GA	Com	2,2aA	2,2aA	1,4aA	1,7aA	1,8aA	y=0,00004x <sup>2</sup> -0,0107x+2,3	59,8
	Sem	1,7aA	2,0aA	1,9aA	2,0aA	0,8aB	y=-0,00008x <sup>2</sup> +0,0121x+1,6	86,4
CV%		10,7						
		t ha <sup>-1</sup>						
P	Com	10,6cA	10,5cA	11,7aA	11,8aA	10,9bA	y=-0,0678x <sup>2</sup> +17,4766x+10	56,8
	Sem	10,3cA	10,9bA	11,8aA	11,5 aA	11,9aA	y = 7,5360x + 10544,34 <sup>*</sup>	81,8
CV%		9,7						

pelo híbrido utilizado neste experimento, que apresenta alto potencial produtivo e responde a altas doses de nitrogênio. Este maior produção pode estar associada à presença da bactéria, que aumenta a quantidade de raízes finas, potencializando a absorção e o acúmulo de nutrientes pelas plantas (Bashan & de-Bashan, 2010).

Na ausência do *Azospirillum*, o aumento na dose de N não foi significativo ( $p < 0,05$ ), pois de 0,0 (zero) para 200 kg ha<sup>-1</sup> promoveu incremento apenas de 3% (314 kg) na produção de grãos, enquanto na presença da bactéria este aumento foi de 16% (1630 kg). Isto evidencia que a inoculação das sementes com *Azospirillum* melhora a resposta da planta à adubação, resultando em aumento de produção.

Em estudo semelhante, Moraes (2012) avaliando milho de alta tecnologia, encontrou resposta quadrática da produtividade de grãos em função das doses de N, sendo a máxima produtividade (10,14 t ha<sup>-1</sup>) alcançada na aplicação de 260 kg ha<sup>-1</sup> de N. No entanto, em ensaio com baixa tecnologia, a produtividade média foi de 8,6 t ha<sup>-1</sup>, tanto na dose de 100 quanto na dose de 300 kg ha<sup>-1</sup>.

Em experimento com ausência e presença de *Azospirillum* e N em milho, a produtividade de grãos quando a adubação nitrogenada foi realizada na presença de *Azospirillum* foram 16% maior em relação à adubação na ausência da bactéria (Cavallet et al., 2000). Hungria et al. (2010) e Ferreira et al. (2013) encontraram incrementos de quase 30% na produção de grãos com a inoculação de *Azospirillum* em milho. Dotto et al. (2010) avaliando a inoculação com *Herbaspirillum seropedicae* e diferentes níveis de N em

dois híbridos, não encontraram influência significativa da inoculação na produção de grão. Mas, a inoculação promoveu um incremento de 649 kg ha<sup>-1</sup> (8,6%) na produtividade do híbrido AS 1570, ao passo que o híbrido AS 1540 apresentou redução de 360 kg ha<sup>-1</sup> (5,1%). Este resultado demonstra que diferentes híbridos apresentam respostas diferentes quando inoculadas com BPCP.

## CONCLUSÕES

A inoculação das sementes de milho com a bactéria *Azospirillum brasilense* melhora a eficiência da planta na absorção do nitrogênio disponível.

O diâmetro de espiga e a produtividade aumentaram linearmente com às doses de nitrogênio na presença da bactéria.

A inoculação da semente com a bactéria não substitui o uso de fertilizantes nitrogenados, mas melhora a resposta da planta à adubação, especialmente em doses elevadas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Araújo, F.F. 2008. Inoculação de sementes com *Bacillus subtilis* formulado com farinha de ostras e desenvolvimento de milho, soja e algodão. Ciência e Agrotecnologia, 32: 456-462.
- Bashan, Y. & L.E. de-Bashan. 2010. How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes

- plant growth – a critical assessment. In: Advance in Agronomy, 108: 77-136.
- Cantarella, H.** 2007. Nitrogênio. In: Novais, R.F., Alvarez V., V.H., Barros, N.F., Fontes, R.L.F., Cantarutti, R.B. & Neves, J.C.L. (eds.). Fertilidade do solo. Viçosa: SBCS, 7: 375-470.
- Cavallet, L.E., A.C.S. Pessoa, J.J. Helmich, P.R. Helmich & C.F. Ost.** 2000. Produtividade do milho em resposta à aplicação de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum* sp. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental, 4: 129-132.
- Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB).** 2014. Acompanhamento da safra brasileira: grãos, v.1 safra 2013/2014, n.5, Quinto levantamento, Brasília, 69p.
- Correa, O.S., A.M. Romero, M.A. Soria & M. De Estrada.** 2008. *Azospirillum brasilense*-plant genotype interactions modify tomato response to bacterial diseases, and root and foliar microbial communities. IN: Cassan, F.D., Garcia de Salamone, M. (Ed.) *Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, p.87-95.
- Cruz, J.C., R.P. Versiani & M.T.R. Ferreira** 2011. Cultivo de milho. Embrapa Milho e Sorgo, Sistema de produção, Sete Lagoas, versão eletrônica 7ed. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Milho/cultivodomilho>. Acesso: janeiro de 2014.
- Dartora, J., V.F. Guimarães, D. Marini & G. Sander.** 2013. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, 7: 1023-1029.
- Dotto, A.P., M.C. Lana, F. Steiner & J.F. Frandoloso.** 2010. Produtividade do milho em resposta à inoculação com *Herbaspirillum seropedicae* sob diferentes níveis de nitrogênio. Revista Brasileira de Ciências Agrárias, 5: 376-382.
- Emygdio, B.M., A.P.S.A. Rosa & M.C.C. Teixeira.** 2013. Indicações técnicas para o cultivo de milho e de sorgo no Rio Grande do Sul – safras 2013/2014 e 2014/2015. Brasília, DF: Embrapa, 124p.
- Embrapa - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária.** 2009. Centro Nacional de Pesquisas de Solos. Manual de análises química do solos, plantas e fertilizantes. 2 ed. Ver. E ampl.. Brasília, DF: Embrapa informações tecnológicas, 627p.
- Embrapa - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária.** 2011. Centro Nacional de Pesquisa de Solos (Rio de Janeiro, RJ). Manual de métodos de análise de solo. 3 ed. Brasília: Embrapa-SPI, Embrapa-CNPS, 230pp.
- Ferreira, A.S., R.R. Pires, P.G. Rabelo, R.C. Oliveira, J.M.Q. Luz & C.H. Brito.** 2013. Implications of *Azospirillum brasilense* inoculation and nutriente addition on maize in soils of the Brazilian Cerrado under greenhouse and field conditions. Applied Soil Ecology, 72: 103-108.
- Goes, R.J., R.A.F. Rodrigues, A.T. Takasu & O. Arf.** 2013. Características agrônomicas e produtividade do milho sob fontes e doses de nitrogênio em cobertura no inverno. Revista Brasileira de Milho e Sorgo, 12: 250-259.
- Gomes, R.F., A.G. Da Silva, R.L. De Assis & F.R. Pires.** 2007. Efeito de doses e da época de aplicação de nitrogênio nos caracteres agrônomicos da cultura do milho sob plantio direto. Revista Brasileira Ciência do Solo, 31: 931-938.
- Hungria, M., R.J. Campo, E.M. Souza & F.O. Pedrosa.** 2010. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. Plant and Soil, 331: 413-425.
- Lana, M.C., J. Dartora, D. Marini & J.E. Hann.** 2012. Inoculation with *Azospirillum*, associated with nitrogen fertilization in maize. Revista Ceres, 59: 399-405.
- Malavolta, E., G.C. Vitti & S.A. Oliveira.** 1997. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. 2ed. Piracicaba: POTAFOS, 319p.
- Moraes, T.P.** 2012. Adubação nitrogenada e inoculação com *Azospirillum brasilense* em híbridos de milho. 2012. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 71 pp.
- Novakowski, J.H., I.E. Sandini, M.K. Falbo, A. Moraes, J.H. Novakowski & N.C. Cheng.** 2011. Efeito residual da adubação nitrogenada e inoculação de *Azospirillum brasilense* na cultura do milho. Semina: Ciências Agrárias, 32: 1687-1698.
- Oliveira, F.A., L.F. Cavalcante, I.F. Silva, W.E. Pereira, J.C. Oliveira & J.F.C. Filho.** 2009. Crescimento do milho adubado com nitrogênio e fósforo em um Latossolo Amarelo. Revista Brasileira de Ciências Agrárias, 4: 238-244.
- Okumura, R.S., G.T. Yano, D.C. Mariano, P.V.C. Zaccheo & H.W. Takahashi.** 2013. Nutrição nitrogenada no milho fertilizado com ureia tratada com inibidor de urease. Semina: Ciências Agrárias, 34: 157-170.
- Pereira, W., J.M. Leite, G.S. Hipólito, C.L.R. Santos & V.M. Reis.** 2013. Acúmulo de biomassa em variedades de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes estirpes de bactérias diazotróficas. Revista Ciências Agrárias, 44: 363-370.
- Pimentel, M.S., M.S.F. Ricci, J.R. Costa, V.M. Reis, V.L.S. Santos & M.F. Silva.** 2008. Desenvolvimento e nutrição de mudas de cafeeiro inoculadas com bactérias promotoras de crescimento. Revista Brasileira de Agrociência, 14: 221-230.
- Puente, M.L., J.E. García, G.A. Maroniche, G.G. Arguissain, H.J. Pirchi & A. Perticari.** 2013. Plant-growth promotion of argentinean isolates of *Azospirillum brasilense* on rice (*Oryza sativa* L.) under controlled and field conditions. American-Eurasian Journal Agricultural. & Environmental Science, 13: 1361-1369.
- Ramos, A.S., T.M.C. Santos, T.M. Santana, E.L.R. Guedes & Y.C. Montaldo.** 2010. Ação do *Azospirillum lipoferum* no desenvolvimento de plantas de milho. Revista Verde, 5: 113-117.
- Reis Júnior, F.B., C.T.T. Machado, A.T. Machado & L. Sodek.** 2008. Inoculação de *Azospirillum amazonense* em dois genótipos de milho sob diferentes regimes hídricos. Revista Brasileira de Ciência do Solo, 32: 1139-1146.
- Sabundjian, M.T., O. Arf, F.H. Kaneko & J.P. Ferreira.** 2013. Adubação nitrogenada em feijoeiro em sucessão a cultivo solteiro e consorciado de milho e *Urochloa ruziziensis*. Pesquisa Agropecuária Tropical, 43: 292-299.

**Sangoi, L., M.L. Almeida, M.A. Gracietti, D. Horn, C. Schweitzer, A. Schmitt & P. Bianchet.** 2005. Rendimento de grãos, produção e distribuição de massa seca de híbridos de milho em função do

aumento da densidade de plantas. *Revista Brasileira de Agrociência*, 11: 25-31.

**Sivasakthivelan, P. & P. Saranraj.** 2013. *Azospirillum* and its Formulations: A Review. *Intl. J. Microbiol. Res.*, 4: 275-287.